

Penentuan Kandungan Likopen dalam Ragi *Rhodotorula mucilaginosa* NBRC 0001

Christine Dyta dan Refdinal Nawfa

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia

e-mail: refnawfa@chem.its.ac.id

Abstrak— Penelitian ini dilakukan untuk menentukan kandungan likopen yang terdapat dalam *Rhodotorula mucilaginosa* NBRC 0001, dengan cara ekstraksi lipid total dan kemudian dicuci dengan metanol. Lipid total didapatkan dengan proses ekstraksi menggunakan campuran pelarut kloroform : metanol (2:1). Hasil lipid total ini diidentifikasi dengan kromatografi cair – spektroskopi massa. Hasil senyawa setelah pencucian dengan metanol diidentifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR. Kadar lipid total ragi *R. mucilaginosa* yang didapatkan sebesar 0,165 g/g sel kering (16,5%). Kadar likopen dari *R. mucilaginosa* terhadap lipid total sebesar 0,01g/g (1%) dan terhadap biomassa kering sebesar 0,0016 g/g (0,16%).

Kata Kunci— *Rhodotorula mucilaginosa*; likopen; ekstraksi; lipid.

I. PENDAHULUAN

Likopen termasuk kelompok pigmen bahan alam karotenoid. Likopen merupakan komponen alam dari buah-buahan merah, sayuran, alga dan jamur tertentu [1]. Likopen telah menjadi objek penelitian karena terbukti mempunyai sifat antioksidan pada keadaan in vitro [2]. dan mengurangi risiko kanker kandung kemih, kanker pankreas dan serviks [3]. Namun karena dari tahun ke tahun jumlah penduduk semakin meningkat, sehingga mengakibatkan konversi lahan pertanian menjadi perumahan semakin meningkat, ditambah dengan iklim yang terus-menerus berubah-ubah, degradasi air, dan kerusakan lahan menjadi penyebab sulitnya penambahan lahan pertanian di masa datang [4].

Selama ini, beberapa penelitian membahas tentang produksi likopen yang melibatkan mikroorganisme seperti penggunaan *Saccharomyces cerevisiae* yang dilakukan oleh Xie pada tahun 2015. [5]. Jenis mikroorganisme yang lain adalah jamur *Blakeslea trispora* yang digunakan untuk memproduksi likopen [6]. Untuk jenis ragi telah dilakukan pula penelitian mengenai isolasi likopen pada ragi *Rhodotorula mucilaginosa* dengan galur UICC Y-169 [7].

Adanya beberapa mikroorganisme yang telah dilaporkan maka perlu mencari mikroorganisme lain yang juga dapat menghasilkan likopen seperti pada *R. mucilaginosa* dengan galur NBRC-0001. Penggunaan *R. mucilaginosa* NBRC 0001 mempunyai kelebihan dari mikroorganisme lain karena mikroorganisme ini dapat tinggal diberbagai tempat seperti air laut, air tawar, dan daratan, sehingga mudah dibiakan [8].

Adanya jenis galur yang berbeda dari *R. mucilaginosa* memungkinkan menghasilkan kandungan likopen yang berbeda sehingga penelitian ini dilakukan dengan

perumusan masalah yaitu apakah dalam *R. mucilaginosa* NBRC 0001 dapat menghasilkan senyawa likopen dan bagaimana perbedaan hasil likopen dengan *R. mucilaginosa* galur lainnya.

Penelitian sebelumnya diperoleh data tentang kandungan likopen pada beberapa mikroorganisme. Maka pada penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan likopen pada *R. mucilaginosa* NBRC 0001.

II. METODELOGI PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain seperangkat peralatan gelas, spektrofotometer UV-Vis Genesys 10S, peralatan kromatografi lapis tipis, Spektroskopi FTIR dan Kromatografi Cair/Spektroskopi Massa.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Rhodotorula mucilaginosa* NBRC 0001 dari *National Institute of Technology and Evaluation* Jepang, Glukosa (Riedel-de Haën Ag Seelze-Hannover), Yeast Ekstrak dan Pepton dari Merck, Agar (Difco BD), metanol, kloroform, n-heksana, dan etil asetat dari Merck.

B. Pembuatan Media

Media cair pertumbuhan dibuat dengan kandungan glukosa sebesar 10 g/L, pepton sebesar 7,5 g/L, dan yeast ekstrak 7,5 g/L. Media padat pertumbuhan dibuat dengan kandungan glukosa sebesar 10 g/L, pepton sebesar 7,5 g/L, yeast ekstrak 7,5 g/L, dan agar sebesar 15 g/L.

C. Kurva Pertumbuhan

Satu koloni *R. mucilaginosa* dibiakkan dalam media cair, kemudian setiap 6 jam diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum.

D. Produksi Biomassa

Satu koloni *R. mucilaginosa* dibiakkan dalam media cair kemudian dishaker 120 rpm, dan dipanen biomassa pada jam ke 18 jam. Pemanenan dilakukan dengan memisahkan sel dari media cair menggunakan sentrifugasi pada 3000 rpm selama 15 menit. Sel kering diperoleh setelah diliofilisasi pada suhu -87°C selama 24 jam.

E. Ekstraksi Likopen

Sel kering sebanyak 2 gram diekstrak menggunakan 50 mL kloroform : metanol (2:1, v/v) dengan refluks, proses ekstraksi diulang hingga warna sel memudar. Hasil ekstraksi

dipisahkan dengan corong masir, kemudian dikeringkan dengan rotary evaporator dan ditimbang sebagai lipid total dan ditentukan kandungan likopen dengan LC-MS. Kemudian dicuci dengan metanol berkali-kali, endapan yang didapatkan dipisahkan, lalu dikeringkan pada suhu 40°C selama 4 jam.

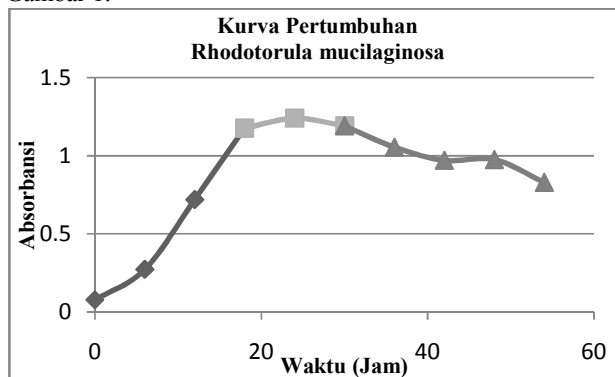
F. Identifikasi Senyawa

Senyawa yang diperoleh kemudian dianalisis dengan Spektrofotometri UV-Vis, dan FT-IR.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Kurva Pertumbuhan

Kurva pertumbuhan dibuat dengan metode turbidimetri. Berikut kurva pertumbuhan *R. mucilaginosa* terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva Pertumbuhan *R. mucilaginosa*

Pada jam ke-0 sampai 6 adalah fase percepatan yang merupakan fase setelah adaptasi. Pada fase kedua yaitu fase log yang terjadi pada jam ke-6 sampai 18. Pada fase ini terjadi laju pertumbuhan yang maksimal. Pada fase ketiga yaitu fase stasioner yang terjadi pada jam ke-18 sampai 30. Pada fase ini metabolit sekunder mulai diproduksi. Pada fase keempat yaitu fase kematian yang mulai terjadi pada jam ke-30. Pada fase ini ketersediaan oksigen dan nutrisi pada media biakan mulai menipis, sehingga bakteri mulai menghentikan proses pertumbuhan dan reproduksi.

Pada kurva pertumbuhan diketahui bahwa pertumbuhan optimum terdapat pada fase stasioner yaitu pada jam ke-18 hingga 30. Pada fase ini, pemanenan biomassa akan dilakukan karena diperkirakan sel ragi yang hidup berjumlah optimum, dan pada fase ini diharapkan metabolit sekunder seperti karotenoid sudah diproduksi.

B. Pemiakan dan Produksi Biomassa

Produksi biomassa dilakukan untuk memperoleh biomassa dalam jumlah banyak, dilakukan produksi biomassa berkali-kali. Setelah inkubasi 18 jam, biomassa dan media cair dipisahkan, terbentuk 2 lapisan, biomassa di bagian bawah berupa padatan merah muda dan media cair di bagian atas berupa cairan kuning. Biomassa kering yang diperoleh sebesar 1,15 g/L

C. Ekstraksi Likopen

Biomassa sebesar 2,3 gram diekstraksi senyawa lipidnya, proses ekstraksi diulangi hingga warna biomassa memudar agar karotenoid terekstrak secara maksimal. Penggunaan campuran pelarut dilakukan untuk mendapatkan lipid total

baik bersifat polar maupun non polar. Hasil ekstrak dipisahkan dengan corong masir dalam keadaan vakum untuk mempercepat proses penyaringan.

Pada hasil ekstraksi diperoleh padatan berwarna kuning kecoklatan sebesar 0,3796 gram dengan presentase massa sebesar 16,5% dari massa biomassa kering. Pencucian metanol bertujuan untuk melarutkan senyawa lipid polar, sehingga tertinggal senyawa nonpolar yang diduga karotenoid. Padatan berwarna merah muda didapatkan dengan massa sebesar 0,0038 gram dengan presentase massa sebesar 0,16% dari massa biomassa kering.

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan isolasi dan purifikasi senyawa likopen dari *R. mucilaginosa* UICC Y-169. Pada penelitian tersebut terlebih dahulu dilakukan uji optimalisasi kultur, sehingga diketahui kondisi optimum ragi dengan kandungan sukrosa 2,5% dan ammonium sulfat 2g/L. Pada penelitian tersebut likopen didapatkan dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut n-heksana dan dimurnikan dengan metode saponifikasi dan rekristalisasi. Hasil dari penelitian ini didapatkan likopen sebesar 0,0197 gram dari 0,2896 gram oleresin (18,67%) [7].

Hasil lipid total yang didapatkan pada penelitian ini lebih banyak dibanding penelitian sebelumnya. Hal ini disebabkan karena jenis pelarut yang berbeda. Persentase hasil likopen yang didapatkan pada penelitian ini lebih sedikit. Hal ini disebabkan karena pada penelitian sebelumnya telah dilakukan optimalisasi media dalam memproduksi likopen.

D. Analisis Likopen

1) Kromatografi Lapis Tipis

Pada hasil analisis ini terlihat adanya noda tunggal berwarna merah muda, yang tidak terlihat pada pancaran lampu UV. Diperkirakan adanya senyawa tunggal pada hasil ekstraksi, namun belum diketahui senyawa tersebut.

2) Spektrofotometri UV-Vis

Pada analisis ini didapatkan spektrum serapan puncak yang menunjukkan yaitu pada panjang gelombang 455 nm, 480 nm, dan 511 nm. Adanya panjang gelombang maksimum pada 480 nm, dimana senyawa ini menyerap warna biru, sehingga pada sinar tampak memperlihatkan warna komplementer dari senyawa ini yaitu jingga.

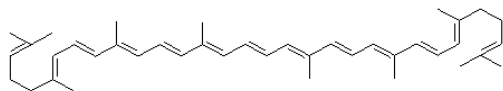
3) Spektroskopi Inframerah Transformasi Fourier

Hasil analisis spektroskopi inframerah transformasi fourier yang didapatkan data spektrum inframerah pada tabel 1.

Tabel 1. Data perbandingan spektrum FT-IR sampel dan standart likopen

| No. | Gugus | Panjang gelombang (cm ⁻¹) | |
|-----|-------------|---------------------------------------|-----------------|
| | | Puncak sampel | Puncak standart |
| 1. | C-H | 2.922 | 2.916 |
| 2. | C=C | 1.743 | 1.728 |
| | | 1.651 | 1.640 |
| 3. | C-H bending | 1.460 | 1.446 |
| | | 1.166 | 1.101 |
| 4. | C-H alkena | 721 | 612 |
| 5. | O-H | 3.396 | 3.720 |

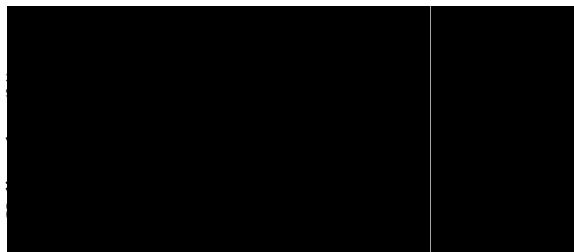
Hasil tersebut sesuai dengan gugus likopen yang terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur likopen

E. Kromatografi Cair-Spektroskopi Massa

Pada analisis kromatografi cair-spektroskopi massa dilakukan deteksi fraksi pada massa molekul 537 yang merupakan massa molekul likopen. Berikut merupakan hasil analisis kromatografi cair - spektroskopi massa pada Gambar 3



Waktu Retensi (menit)

Gambar 3. Kromatogram LC-MS

Pada gambar 3. terlihat adanya 2 puncak yang menunjukkan adanya senyawa dengan massa molekul 537 yaitu pada waktu retensi 0,42 dan 1,84.

Pada penelitian ini dilakukan pendeteksian fragmen pada massa molekul 118,5-119,5 dan m/z 158,5 – 159,5. Dari hasil spektrum tersebut terlihat bahwa fragmen dengan m/z 118,5-119,5 terdapat pada waktu retensi 0,43 dan 0,58, sedangkan ion fragmen dengan massa molekul 158,5 - 159,5 pada waktu retensi 0,43. Data-data di atas dapat disimpulkan bahwa senyawa dengan waktu retensi sekitar 0,4 diduga merupakan senyawa likopen.

F. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa biomassa sel kering yang dihasilkan sebanyak 1,15gram per 1000mL. Massa lipid total yang didapatkan sebesar 0,165 gram/gram sel kering atau 16 % dari massa sel kering. Massa likopen yang dihasilkan sebesar 0,01 gram/gram lipid dengan prosentase 1% dari massa lipid total. Pada penelitian sebelumnya, didapatkan senyawa likopen dari *R. mucilaginosa* UICC Y-169 sebesar 0,0197 gram dari 0,2896 gram lipid total (18,67%).

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Olempska-Beer Z. (2006) Lycopene (Synthetic) Chemical and Technical Assement (CTA). *Chem. Tech. Assess. Food Addit. CTAs*.
- [2] Schwartz S., Bruno R. dan Wildman R. (2006) Lycopene. In *Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods*, Second Edition Modern Nutrition. CRC Press. pp. 55–72.
- [3] Kelkel M., Schumacher M., Dicato M. dan Diederich M. (2011) Antioxidant and anti-proliferative properties of lycopene. *Free Radic. Res.* 45, 925–940.
- [4] Mulyani A., S. Ritung dan Irlas Las (2011) Potensi dan Ketersediaan Sumber Daya Lahan untuk Mendukung Ketahanan Pangan. *J. Litbang*

Pertan. 30, 73–80.

- [5] Xie W., Lv X., Ye L., Zhou P. dan Yu H. (2015) Construction of lycopene-overproducing *Saccharomyces cerevisiae* by combining directed evolution and metabolic engineering. *Metab. Eng.* 30, 69–78.
- [6] Wang H.-B., He F., Lu M.-B., Zhao C.-F., Xiong L. dan Yu L.-J. (2014) High-quality lycopene overaccumulation via inhibition of γ -carotene and ergosterol biosyntheses in *Blakeslea trispora*. *J. Funct. Foods* 7, 435–442.
- [7] Haq N. F. (2012) Isolasi, Purifikasi, dan Karakterisasi Likopen dari Hasil Fermentasi *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169. Thesis, Universitas Indonesia.
- [8] Libkind D., Gadanho M., Broock M. van dan Sampaio J. P. (2008) Studies on the heterogeneity of the carotenogenic yeast *Rhodotorula mucilaginosa* from Patagonia, Argentina. *J. Basic Microbiol.* 48, 93–98.